

Karieshemmstoffe mit lokaler Enzymwirkung im Tierexperiment

von

Peter Richter

Mainz 1967

Aus der konservierenden Abteilung (Leiter: Prof. Dr. Dr. W. Ketterl)
der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten
(Direktor: Prof. Dr. F. Jung)
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Karieshemmstoffe mit lokaler Enzymwirkung im Tierexperiment

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde eines
Doktors der Zahnheilkunde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

Peter Richter
Zahnarzt aus Wetzlar

Mainz 1967

Karieshemmstoffe mit lokaler Enzymwirkung im Tierexperiment



Dekan: Prof. Dr. J. Borneff

Referent: Prof. Dr. Dr. P. Riethe

Korreferent: Prof. Dr. Dr. W. Ketterl

Tag der mündlichen Prüfung: 27.1.1967

I N H A L T S Ü B E R S I C H T

	Seite
I. Erläuterungen zur Proteolyse - Chelations- theorie	1
II. Das Prinzip der kurzfristig, erzeugten Rattenkaries	2
a) Sinn und Zweck des Experimentes	2
b) Erläuterung zur Methodik	3
c) Anatomie der Bezaehlung der Ratte	5
III. Eigener Versuch	6
a) Beschreibung einer " Zahnbürste " für Ratten	6
b) Putzmethode	9
c) Standardisierung der Umwelteinflüsse, der Versuchstiere und der Versuchsbe- dingungen	10
d) Schilderung des Versuchablaufes	13
IV. Auswertung	16
a) Schliffherstellung	16
b) Färbungsmethode	17
c) Grade der Läsionen, Auswertungsmodus .	20
V. Enzyme	22
1) Allgemeines	
a) Definition der Enzyme	22
b) Wirkungsweise	22
c) Abhängigkeit der Umsatzgeschwindig- keit eines Enzymes	23
2) Spezielles	
a) Enzyme in der Mundhöhle	25
b) Wirkungsweise der Enzyme in der Mundhöhle	25

	Seite
c) Angewandte Enzym - Paste auf der Basis von Trypsin und Chymotrypsin	28
d) Speicholverhältnisse der Ratte	29
e) Chemische Struktur der kariogenen Kost	30
f) Angriffsweise und Aktivität der ver- wendeten Enzyme bei Mensch und Ratte .	30
VI. Ergebnisse	33
a) Zahlenmäßige Erfassung der Karies- läsionen	33
b) Standardabweichung des Mittelwertes ..	34
c) Mathematisch - statistische Auswer- tung	39
d) Graphische Darstellung	44
VII. Diskussion	46
VIII. Zusammenfassung	49
IX. Literaturangaben	50

I. Erläuterungen zur Proteolyse - Chelationstheorie

Ch.Leimgruber (1964) definiert: " Karies ist eine Mißfunktion des Zahnorganes, die zuerst die Widerstandskraft des mineralisierten Gewebes vermindert und dann die Kavitätenbildung erlaubt."

Auf dieser allgemein gültigen Definition basiert jede der zahlreichen Kariestheorien; aus dieser Vielzahl soll nur die Proteolysis - Chelationstheorie, seit dem Jahre 1954 von A.Schatz und I.Martin (1960) publiziert, kurz erläutert werden, da diese Theorie dem folgenden Tierexperiment teilweise zu grunde liegt.

Nach diesen beiden Autoren sollen proteolytische Bakterienfermente die organischen Bestandteile der Schmelzskutikula und des Schmelzes - vorwiegend bestehend aus Keratin, Glykoproteinen und Kollagenen - abbauen. Als Endprodukte dieser enzymatischen Aufspaltung wird größtenteils Milchsäure (Oxypropionsäure) vorliegen. Die dissoziierte Milchsäure kann Calciumionen aus dem Schmelzapatit komplex binden, wobei das entstandene Calciumlaktat wegen seiner OH - Gruppe ein weiteres Calciumion binden kann. Die auf diese Weise entstandene Verbindung wird als Chelat - chemisch ist dies ein wasserlösliches Komplexsalz einer organischen Säure mit einem Spurenelement - bezeichnet.

Bei den Chelatoren handelt es sich also um zwei Bindungen in Hinblick auf das Calciumion, erstens um eine normale Carboxyl - Calcium - Bindung, zweitens um eine koordinative Bindung, wobei das Calciumion an der OH - Gruppe des Laktates hängt. Calciumchelate dissoziieren im Gegensatz zu normalen Calciumsalzen kaum, wodurch der stark entkalkende Effekt der Chelatoren zu erklären ist.

Die beiden Vorgänge, Proteolyse und Chelatbildung, verlaufen gleichzeitig; für sie ist die Calcium-ionenkonzentration wesentlich und der pH - Wert ist hierzu nur einer von vielen Faktoren.

II. Das Prinzip der kurzfristig erzeugten Ratten- karies

a) Sinn und Zweck des Experimentes

Im folgenden Versuch, der eine Möglichkeit der Kariesprophylaxe angeben soll, wurde eine dem Versucher unbekannte Zahnpaste an Jungratten angewandt.

Die besten Versuchstiere sind zweifellos Anthropoiden, da bei diesen Tieren die Interpretation der Ergebnisse am leichtesten fällt. Um jedoch Läsionen an den Molaren dieser Versuchstiere beobachten zu können, benötigt man Jahre.

Kaninchen und Meerschweinchen sind bei Kariesversuchen völlig ungeeignet, da beide Tierarten einen permanenten Zahndurchbruch aufweisen (K.G. König 1961). Heute werden vorwiegend Ratten und Hamster zu derartigen Versuchen herangezogen.

Da in der hiesigen Klinik erstmals das Prinzip der kurzfristig erzeugten Rattenkaries angewandt wurde, soll auf den Sinn und Zweck der kurzen Experimentierzeit - seit 1955 bekannt - eingegangen werden. Die Methodik ist im wesentlichen von K.G. König, Th.M. Marthaler und H.R. Mühlemann (1957/1958) übernommen worden.

Die allgemeine Forderung, die an einen Kariesversuch gestellt wird, muß nach G. Gustafson und E.M. Stelling (1952) beachtet werden. Nach diesen Autoren muß

die Experimentierzeit so gewählt werden, daß die Karies weit genug entwickelt ist, um sicher diagnostiziert werden zu können. Auf der anderen Seite dürfen Zerstörungen nicht so ausgedehnt sein, daß eine vergleichende Untersuchung verschiedener Gruppen unmöglich wird.

In den Versuch werden Jungratten nach einer Stillzeit von 21 Tagen genommen; sie werden sofort auf kariogene Kost gesetzt und mit dem notwendigen Therapeutikum versehen. Die Versuchsdauer erstreckt sich auf mindestens 10, in der Regel auf 14 - 25 Tage.

Der Unterschied der kurzen zu der bisher üblichen Experimentierzeit (3 - 6 Monate) beruht darauf, daß bei der ersteren Methode eine mikroskopische Auswertung an Hand von unentkalkten, angefärbten Serienschliffen, bei der anderen die makroskopische Auswertung mit Hilfe einer Lupe am einzelnen Zahn erfolgt.

Ein echter Vorteil der kurzen Versuchsdauer ist unabhängig vom Zeitfaktor der, daß die Entstehungsstadien der Karies, also die Initialphase, erfaßt wird. Bei der langen Experimentierzeit werden infolge unterminierender Karies Schmelzeinbruchszonen unvermeidbar sein, die wiederum ein falsches Bild der tatsächlichen Läsionsschwere angeben.

b) Erläuterung zur Methodik

Der Grundgedanke eines jeden kurzfristigen Rattenkariesversuches sei kurz geschildert.

Die Kariesanfälligkeit sinkt mit der Expositionszeit der Zähne in der Mundhöhle. Das heißt, die Experimentierzeit muß auf die Durchbruchzeiten

der Rattenzähne abgestimmt sein, da die eigentliche Schmelzreifung posteruptiv durch Speichelzutritt erfolgt.

Eine kleine Zusammenstellung der Durchbruchszeiten der Molaren der Osborne - Mendel - Ratte veranschaulicht den Zusammenhang zwischen Zahndurchbruch und Experimentierzeit.

Zahndurchbruch (Molaren) der Osborne-Mendel-Ratte

Zahn	Durchbruchsintervall
1. unterer Molar	15.-19. Tag nach der Geburt
1. oberer Molar	15.-19. Tag nach der Geburt
2. unterer Molar	16.-22. Tag nach der Geburt
2. oberer Molar	17.-22. Tag nach der Geburt
3. oberer Molar	31.-43. Tag nach der Geburt
3. unterer Molar	34.-45. Tag nach der Geburt

Im vorliegenden Fall lag die Versuchsdauer bei 14 Tagen; es konnten demzufolge nur die ersten und zweiten molaren zur Diagnose herangezogen werden. Der dritte molar wird nicht ausgewertet, da dieser Zahn bei Versuchsende (36 Tage alte Ratten) teilweise noch nicht durchgebrochen war; wenn ja, so war die Expositionszeit von höchstens vier Tagen zu knapp bemessen gewesen.

Damit ist die Mindestexperimentierzeit, wie oben bereits erwähnt, von 10 Tagen und die Höchstgrenze von 25 Tagen eingehalten; letzteres ist noch weiter unten zu erläutern.

Zum Gelingen einer derartigen Tierstudie sind außer der zeitlichen Wahl des Versuchsbeginnes ein kariesanfälliger Rattenstamm und eine wirksame kariogene Futterform wichtig.

In diesem Versuch handelte es sich um einen kariesanfälligen Osborne - Mendel - Rattenstamm, der mit der Diät 580 nach Stephan (66% Rohrzucker, 32% Magermilchpulver und 2% pulverisierte Schweinetrockenleber) gefüttert wurde. Da dieses kariogene Futter keine vollwertige Nahrung ist, kann man, um Fehlerquellen zu vermeiden, die Experimentierzeit von 25 Tagen nicht überschreiten.

c) Anatomie der Rattenzähne

Die Bezeichnung eines Kieferquadranten der Osborne - Mendel - Ratte besteht aus einem Incisivus und drei Molaren; es fehlen Prämolaren und Eckzahn.

Von Interesse in bezug auf die Kariesdiagnose sind lediglich die Molaren, da der Incisivus permanent durchbricht.

Ein kursorischer Hinweis vermittelt die Anatomie der Molaren. Alle Fissuren sind transversal, also bucco - lingual, bzw. -palatinal angeordnet. Die Schmelzbedeckung beträgt 0,15 - 0,03 mm, wobei allerdings Höckerkuppen frei von jeglichen Schmelzanteilen sind.

Nach E. Hagemann (1960) setzt sich der Schmelz aus 96 - 98% anorganischen Materials zusammen, wovon allein 90% phosphorsaurer Kalk, der Rest kohlensaurer Kalk, Magnesium, Fluor und Spurenelemente sind.

Das Ausmaß eines Molaren beträgt in der Sagittalen

(mesio - distale Richtung) 3mm, in der Transversalen (bucco - linguale Richtung) 1,8mm. Der erste und zweite Molar im Unterkiefer haben in der Regel drei Fissuren, die in der Transversalen (bucco - lingual) angeordnet sind. Die Fissuren sind verschieden stark nach occlusal erweitert, was für die Kariesprädispositionsstellen wesentlich ist. Der dritte, untere Molar hat zwei Fissuren. Im Oberkiefer weisen alle Molaren drei Höcker und damit zwei Fissuren auf.

Die approximalen Prädispositionsstellen der Karies sind bei dieser 14 - tägigen Versuchsdauer nicht zu berücksichtigen, da diese Flächen recht spät infolge mangelhaften Speicheldutrittes voll mineralisiert werden. Glattflächenkaries wird erst nach 20 - bis 25 tägiger Versuchsdauer sichtbar.

III. Eigener Versuch

a) Beschreibung einer Zahnbürste für Ratten

Um auch in einem Tierexperiment Therapeutika nicht nur chemisch einwirken zu lassen, sondern auch die mechanische Wirkung einer Bürste zur Geltung zu bringen, wurde eine " Zahnbürste " hergestellt (siehe auch die Ausführungen von I.P. Lazansky (1947) und D.S. Chernauek, D.F. Mitchell (1951)).

Nach H.Leonhardt (1961) wird durch Paste und Bürste nicht nur eine verminderte Wachstumstendenz der Mikroorganismen, sondern auch eine reinigende Wirkung in der Mundhöhle erzielt.

Aus einer weichen, einreihigen Wimpernbürste (synthetische Borsten, Kunststoffbürstenkopf) wurde eine

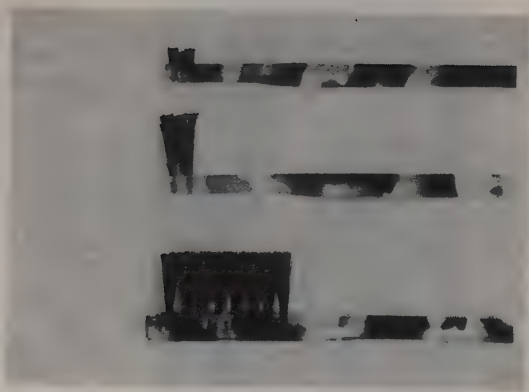


Abb. 1) Ursprüngliche Größe der Bürste,
" Zahnbürste " für Ratten



Abb. 2) Abgewandelte Pipettenreinigungs-
bürste

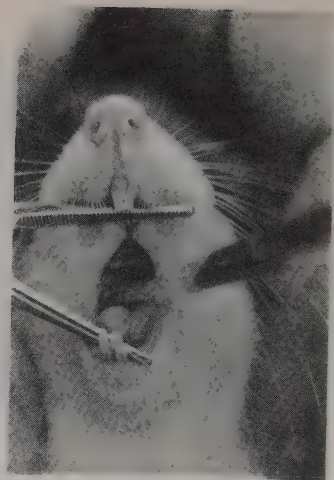


Abb. 3) Putzmethode, " Zahnbürste "
im rechten Unterkiefer

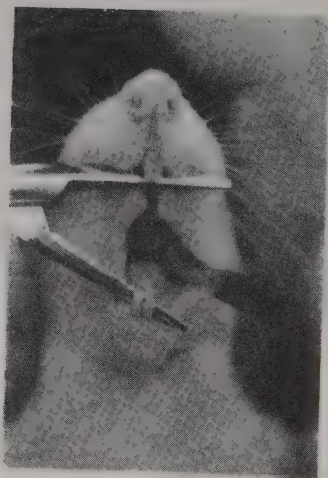


Abb. 4) Putzmethode, " Zahnbürste "
im linken Unterkiefer

passende Bürste mit einer Nylonscheibe zurechtgeschnitten; anschließend wurden scharfe Ränder mit Gummipolierern entfernt. Die Bürstenhöhe betrug 3 mm (Abb. 1).

Es ist verständlich, daß die Bürsten nicht uniform waren; es wurde jedoch für jede Gruppe eine wimpernbürste desselben Fabrikates in annähernd gleicher Größe den Maulverhältnissen der Jungratten angepaßt.

Eine weitgehend konfektionierte, kleine Pipettenreinigungsbürste wäre aus Standardisierungsgründen zweckmäßiger gewesen, hätte jedoch infolge harter Borsten und Anordnung derselben während des Putzvorganges erhebliche Schleimhautdefekte verursacht (Abb. 2).

b) Putzmethode

Die Putzmethode bestand darin, daß die Jungratten auf dem Rücken liegend fixiert wurden; mit einer kleinen Arterienklemme wurde das Maul maximal geöffnet, und die Zahnpaste mit Hilfe der Bürste appliziert, wobei occlusale Putzbewegungen in sagittaler Richtung erfolgten (Abb. 3 und Abb. 4).

Es wurden lediglich die Molaren des Unterkiefers geputzt. Jede Unterkieferhälfte wurde 10 Sekunden gebürstet. Die Zeit wurde nicht durch Stoppuhr, sondern durch eingeübtes Zählen ermittelt, da durch Unruhe des Tieres häufig der Putzvorgang gestört wurde. Eine Uhr läuft weiter, ein unterbrochenes Zählen kann fortgesetzt werden.

Es wurde weiter darauf geachtet, daß jedes Tier mit der gleichen Pastenmenge gebürstet wurde; um trotzdem mögliche Unterschiede zu vermeiden, wurde jedem Tier

nach Beendigung des Putzvorganges der Pastenüberschuß mit Zellstoff entfernt.

Als Zeichen eines geglückten Putzens ist das charakteristische Putzgeräusch zu werten. Es entsteht dadurch, daß die Bürste in der Sagittalen über die occlusalen Zahnflächen bewegt wird, wobei durch die bucco - lingualen Fissuren den Borsten ein Widerstand entgegengesetzt wird.

Auf ein Putzen der Oberkieferzähne wurde bewußt verzichtet, um das Versuchstier nicht zu stark zu belasten. Nach K.G. König, Th. Marthaler und H.R. Mühlemann (1958) tritt außerdem bei den Molaren eine wesentlich geringere Kariesfrequenz auf.

c) Standardisierung der Umwelteinflüsse, der versuchstiere und Versuchsbedingungen

Um die unvermeidliche biologische Streuung eines Tierversuches in kleinen Grenzen zu halten, wurde weitgehend standardisiert.

Der Experimentierraum hatte die vorgeschriebene Temperatur von $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 50%. Insekten waren nicht vorhanden; damit wurde eine mögliche Infektionsgefahr ausgeschaltet. Die Lichtverhältnisse zeigten keine wesentlichen Unterschiede. Die Blechkäfige wurden jeden dritten Tag gesäubert; zusätzlich hatten die Käfige Drahtnetzböden, wodurch einer übermäßigen Koprophagie vorgebeugt ist. Futternäpfe und Wassergefäße wurden täglich gewechselt.

Der wichtigste Gesichtspunkt eine Streuung klein

zu halten, nämlich die Verwertung klar definierter Zuchtstämme, wurde berücksichtigt.

Nach W.Weihe (1964) gelten als Inzuchtsstämme nach Norm des Committee on Standardized Genetic Nomenclature for Mice (1960), Zuchten die seit mindestens 20 Generationen in Bruder - Schwester - oder Eltern - Kinder - Paaren gehalten wurden.

Eine Blockbildung wurde schließlich ebenso erreicht, worüber weiter unten zu berichten sein wird.

Bei dieser Versuchsanordnung handelte es sich um einen doppelten Blindversuch deshalb, weil erstens der Untersucher nicht wußte, welche Zahnpaste die zu prüfende Substanz und welche das Scheinmedikament enthielten, und weil zweitens die noch später auszuführende Auswertung von anderen Untersuchern durchgeführt wurde, denen die Gruppenzugehörigkeit der zu untersuchenden Präparate unbekannt war.

Es ist verständlich, daß durch diese Anordnung eine Erwartung des Versuchers, die die Auswertung beeinflussen könnte, ausgeschlossen ist (G.Kuschinsky und H.Lüllmann (1964)).

Drei Gruppen zu je 20 Tieren, nämlich eine für die beiden Zahnpasten und eine Kontrollgruppe, die mit Aqua destillata geputzt wurde, sind eingeteilt worden.

Zur Gewährleistung einer Blockbildung wurden die Jungtiere desselben Wurfes gleichmäßig auf die doppelte Gruppenzahl, also sechs, verteilt, da ein Parallelversuch gleichzeitig mit gleicher Gruppenanzahl angesetzt war. Da ein Wurf von mehr als 12 Jungtieren nicht zu beobachten war, kamen auf Grund

der eben geschilderten Verteilung niemals mehr als zwei Geschwister in einer Gruppe vor.

Die ursprüngliche Geschlechtsdifferenzierung, bei der pro Gruppe je 10 männliche und 10 weibliche Individuen vorkommen sollten, scheiterte daran, daß mehr weibliche als männliche Ratten geboren wurden. Nach K.G. König, Th. Marthaler und H.R. Mühlemann (1957) sind Geschlechtsunterschiede bei derartigen, infantilen Ratten hinsichtlich der Kariesfrequenz bedeutungslos, bei erwachsenen Tieren hingegen nicht.

Ein weiterer, wesentlicher Gesichtspunkt, der des gestaffelten Eintrittes soll erläutert werden. Es wurde versucht fünf Tiere in einen Käfig - also jede Gruppe war in vier Käfigen - unterzubringen. Dadurch, daß die Würfe nicht gleich alt waren, konnten sie nicht einzzeitig in den Versuch aufgenommen werden. Eine Stillzeit von 21 Tagen war für den Versuchsbeginn Voraussetzung. Es wird damit bezweckt, daß jedes Tier tatsächlich gleichaltrig war. Diese Forderung ist bei einem kurzfristigen Versuch strengstens einzuhalten, wenn man, wie oben erwähnt, bedenkt, daß die Kariesanfälligkeit mit der Expositionszeit der Zähne in der Mundhöhle, bedingt durch eine posteruptive Schmelzreifung, abnimmt.

Der Mangel dieser Methode ist der, daß nicht zu jeder Zeit die volle Anzahl von Tieren pro Käfig einzuordnen war. Die sich daraus ergebenden Fehlerquellen sind jedoch wesentlich geringer als bei einem einzzeitigen Versuchsbeginn mit voller Tierzahl und ungleichaltrigen Tieren. Mit diesem gestaffelten Eintritt der Versuchstiere wurde außerdem erreicht, daß am Ende der Experimentierzeit wirklich 20 Tiere pro Versuchsgruppe vorlagen, da beliebig oft Tiere in den Versuch aufgenommen werden konnten, was bei

einem gleichzeitigen Einsatz der Tiere infolge möglicher Letalität schwer zu erreichen ist. Aus Sicherheitsgründen wurde trotzdem ein Überschuß an Tieren angesetzt.

Um neu hinzugekommene Tiere von den bereits im Versuch stehenden zu unterscheiden, wurden alle Ratten mit verschiedenen Pikrinsäurezeichen versehen.

Wie bereits angedeutet, erhielten alle Ratten dieselbe kariogene Diät 580 nach Stephan bestehend aus 66% Rohrzucker, 32% Magermilchpulver, 2% pulverisierte Schweinetrockenleber. In die Trinkflaschen wurde destilliertes Wasser gegeben, um zu vermeiden, daß Salze des Wassers sich zusätzlich an der Schmelzreifung der Zähne beteiligen konnten.

Die Blechkäfige mit Drahtnetzboden hatten alle die gleichen Ausmaße (48cm x 12cm x 24cm). Die Versuchszeit war im Herbst. Diese banale Feststellung wird deshalb erwähnt, da von mancher Seite dieser Tatsache Bedeutung beigemessen wird.

Im allgemeinen ist zu sagen, daß über die Umwelteinflüsse in bezug auf das Kariesgeschehen bei einem Rattenversuch nicht allzu viel bekannt ist.

Nach F.I. Mc Clure und I. Folk (1953) haben jedoch auf Rattenkaries verständlicherweise Einfluß, die Tieranzahl pro Käfig, Hygiene der Futternapfe und der Käfige, und die daraus resultierende Koprophagie.

d) Schilderung des Versuchablaufes

Eine kurze Schilderung des Versuchablaufes folgt jetzt, die teilweise Andeutungen in dem bereits

Erwähnten im Zusammenhang bringt.

Am 22. Lebenstag wurden die Jungratten unter Berücksichtigung des gestaffelten Eintrittes und Blockbildung in einer der drei Gruppen, eine Kontrollgruppe und zwei Pastengruppen zu je 20 Tieren, eingeteilt. Bis zum 21. Lebenstag wurden die Jungtiere teils gestillt, teils ernährten sie sich von dem im Käfig bereitgestellten Zuchtfutter und Leitungswasser; danach erhielten die jungen Ratten die kariogene Diät 580 nach Stephan und Aqua destillata.

Jede Versuchsgruppe hatte eine eigene " Zahnbürste ", die, um Verwechslungen zu vermeiden, identisch mit der dazugehörigen Zahnpaste gekennzeichnet wurde. Nach jeweils sieben Tagen wurden die Bürsten erneuert. Jede Ratte wurde je Kieferhälfte, jedoch nur im Unterkiefer, 10 Sekunden, also insgesamt 20 Sekunden gebürstet. Der Pastenüberschuß wurde mit Zellstoff restlos entfernt; die Bürsten wurden mit aqua destillata ausgewaschen. Die Kontrollgruppe wurde ebenfalls mit Aqua destillata geputzt.

Auf diese Weise war der mechanische Reinigungseffekt der Bürsten bei allen Gruppen gleich, nur die Angriffsweise der Pasten verschieden.

Es wurde prinzipiell nur einmal und zwar vormittags gebürstet.

Im Anschluß an den Putzvorgang wurde jedem Käfig Futter und Wasser für zwei Stunden entzogen, damit die Pasten einen optimalen Wirkungsbereich hatten.

Damit eine Gruppe nicht immer zur gleichen Zeit geputzt wurde, wechselte täglich die Reihenfolge der Käfige und der Gruppen. Hierdurch wird eine mögliche Fehlerquelle bedingt durch die Fraßgewohnheit, die

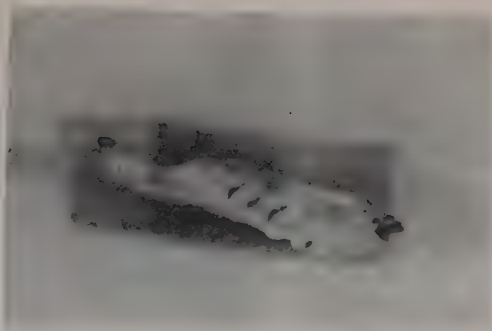


Abb. 5) Präparierte Unterkieferhälfte

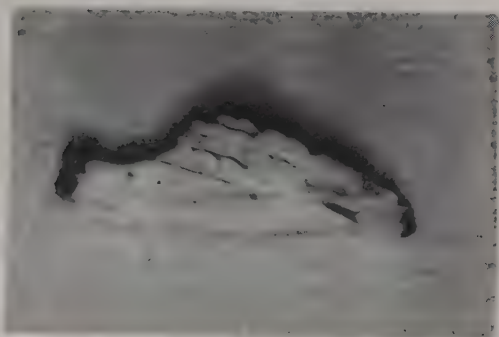


Abb. 6) Geschliffene Unterkieferhälfte

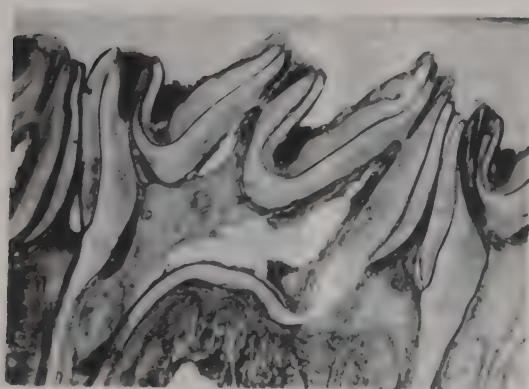


Abb. 7) Mikroskopische, angefärbte Aufnahme

vielleicht an gewisse Tageszeiten gebunden ist, und dem nach der Putzphase 2-stündigen Entzug von Futter und wasser bei allen Gruppen gleich gehalten.

Das Futter muß immer trocken und fein pulverisiert sein; hierdurch wird die kariogene Wirkung gesteigert. Demzufolge wurden die Futternapfe und Trinkgefäße täglich gesäubert bzw. erneuert.

Die Käfige wurden jeden dritten Tag gereinigt. Die Tiere wurden dreimal gewogen, um die Entwicklung zu überprüfen; und zwar zu Beginn, nach sieben Versuchstagen und zu Ende des Versuches. Abwegigkeiten in der normalen Gewichtszunahme konnten nicht festgestellt werden.

Nach 14-tägiger Experimentierzeit wurde das Tier mit Chloroform getötet, und der Unterkiefer herauspräpariert, wobei alle Weichteile entfernt wurden. Jeder Unterkiefer wurde halbiert, und beide Gebißhälften in einem mit 10% Formalin beschickten Gläschen, worauf Gruppenzugehörigkeit und Daten notiert waren, konserviert (Abb. 5).

IV. Auswertung.

a) Schliffherstellung

Danach wurde jeder Unterkieferquadrant mit Leitungswasser gespült, um überschüssiges Formalin zu entfernen.

Um die Serienschliffe herzustellen, wurde die von W. Büttner, H.D. Cremer und M. Herrmann (1956) beschriebene Maschine benutzt.

Das Prinzip des Schleifens sei kurz geschildert: eine rotierende, diamantbelegte Phosphorbronze-
- ca 90 μ stark - schneidet die auf dem Objekt-
halter mit thermoplastischen Massen fixierte Unter-
kieferhälfte in der Sagittalen, also parallel zum
Corpus des Unterkiefers. Der Schnitt wurde so weit
geführt, daß er noch Verbindung mit den übrigen
Unterkieferteilen hatte, um ein Absprengen zu ver-
meiden.

Mit Hilfe einer den Objektträger verstellbaren Mikro-
meterschraube konnten so 5 - 7 Serienschliffe gemäß
der bucco - lingualen Ausdehnung der Molaren in einer
Stärke von ca 100 μ hergestellt werden (Abb. 6).
Die rotierende Phosphorbronze-
folie wurde ständig
durch einen feinen Wasserstrahl gekühlt.

b) Färbungsmethode

Die so geschliffenen Unterkieferquadranten wurden
getrocknet. Mit Schiff'scher Reagenz nach Graumann +
wurden die geschliffenen Unterkieferhälften in toto
während 10 Sekunden angefärbt und sofort mit Aqua
destillata abgespült und getrocknet.

+ Schiff'sche Reagenz nach Graumann (zitiert nach
W.Lipp (1954)):

1. 0,5 g Pararosanilin acidinfrei
stand. Bayer in 15 ml n HCl, ohne
Erwärmen unter Schütteln voll-
ständig lösen.
2. 0,5 g Kaliummetabisulfat ($K_2S_2O_5$)
in 85 ml Aqua destillata lösen
und dazusetzen.
3. Rote Lösung mit 0,3 g Aktivkohle
(pulverisiert) zwei Minuten lang
schütteln und dann filtrieren.

Es wird Schiff'sche Reagenz verwendet, da hierbei initiale Kariesläsionen feststellbar sind, worüber oben gesprochen wurde.

Bei dieser Anfärbungsmethode werden alle kariösen Defekte im Schmelz und Dentin rot bis violett gefärbt (Abb. 7). Leider erhält auch noch nicht vollständig mineralisierter Schmelz, der vorwiegend im Approximalraum vorkommt, diese Rotfärbung, weswegen diese Stellen nicht ausgewertet werden.

Die Anfärbung beruht nach K.G.König, Th.Marthaler und H.R.Mühlemann (1958) wahrscheinlich darauf, daß durch Proteolyse Aldehydgruppen entstehen, die mit dem Färbungsmittel reagieren.

Sind die Unterkieferhälften getrocknet, so werden die einzelnen Schliffe voneinander getrennt und auf einen Objektträger gebracht und zwar so, daß die einzelnen Schliffe übereinander zu liegen kommen. Hierbei ist der buccale Schliff der unterste auf dem Objektträger, der linguale der oberste Schliff; dazwischen liegen die restlichen Schliffe, die alle mittels Tesa - Band fixiert werden.

Mit dieser Methode erreicht man, daß Kariesstellen gut erkannt werden können. Es wurde eingangs gesagt, daß die Fissuren bucco - lingual angeordnet sind. Durch die sagittale Durchtrennung der Kieferhälften in 5 - 7 Teile, und die Anordnung derselben übereinander so, daß Fissur unter Fissur zu liegen kommt, ist es verständlich, daß die einzelne Fissur entsprechend der Anzahl der Schliffe erfaßt wird, und so das Ausmaß des Kariesdefektes exakt ermittelt werden kann.

Jeder Unterkiefer eines Tieres ist also halbiert, gesondert geschliffen, angefärbt, und auf einen

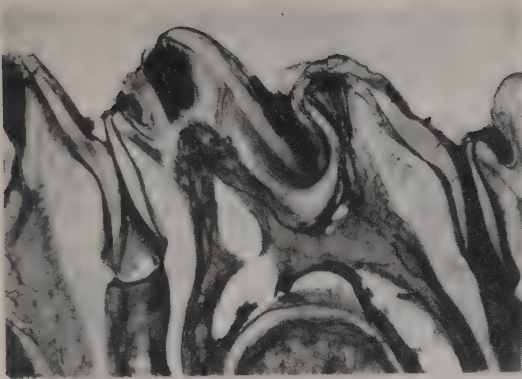


Abb. 8) Kariesläsionen

Nr. 11.000		Datum 08.		Anfertigung			
Ordnung	Pl.	Ordnung	Pl.	A	B	C	D
1	1	1	1	1	1	1	1
2	2	2	2	2	2	2	2
3	3	3	3	3	3	3	3
4	4	4	4	4	4	4	4
5	5	5	5	5	5	5	5
6	6	6	6	6	6	6	6
7	7	7	7	7	7	7	7
8	8	8	8	8	8	8	8
9	9	9	9	9	9	9	9
10	10	10	10	10	10	10	10
11	11	11	11	11	11	11	11
12	12	12	12	12	12	12	12
13	13	13	13	13	13	13	13
14	14	14	14	14	14	14	14
15	15	15	15	15	15	15	15
16	16	16	16	16	16	16	16
17	17	17	17	17	17	17	17
18	18	18	18	18	18	18	18
19	19	19	19	19	19	19	19
20	20	20	20	20	20	20	20
21	21	21	21	21	21	21	21
22	22	22	22	22	22	22	22
23	23	23	23	23	23	23	23
24	24	24	24	24	24	24	24
25	25	25	25	25	25	25	25
26	26	26	26	26	26	26	26
27	27	27	27	27	27	27	27
28	28	28	28	28	28	28	28
29	29	29	29	29	29	29	29
30	30	30	30	30	30	30	30
31	31	31	31	31	31	31	31
32	32	32	32	32	32	32	32
33	33	33	33	33	33	33	33
34	34	34	34	34	34	34	34
35	35	35	35	35	35	35	35
36	36	36	36	36	36	36	36
37	37	37	37	37	37	37	37
38	38	38	38	38	38	38	38
39	39	39	39	39	39	39	39
40	40	40	40	40	40	40	40
41	41	41	41	41	41	41	41
42	42	42	42	42	42	42	42
43	43	43	43	43	43	43	43
44	44	44	44	44	44	44	44
45	45	45	45	45	45	45	45
46	46	46	46	46	46	46	46
47	47	47	47	47	47	47	47
48	48	48	48	48	48	48	48
49	49	49	49	49	49	49	49
50	50	50	50	50	50	50	50
51	51	51	51	51	51	51	51
52	52	52	52	52	52	52	52
53	53	53	53	53	53	53	53
54	54	54	54	54	54	54	54
55	55	55	55	55	55	55	55
56	56	56	56	56	56	56	56
57	57	57	57	57	57	57	57
58	58	58	58	58	58	58	58
59	59	59	59	59	59	59	59
60	60	60	60	60	60	60	60
61	61	61	61	61	61	61	61
62	62	62	62	62	62	62	62
63	63	63	63	63	63	63	63
64	64	64	64	64	64	64	64
65	65	65	65	65	65	65	65
66	66	66	66	66	66	66	66
67	67	67	67	67	67	67	67
68	68	68	68	68	68	68	68
69	69	69	69	69	69	69	69
70	70	70	70	70	70	70	70
71	71	71	71	71	71	71	71
72	72	72	72	72	72	72	72
73	73	73	73	73	73	73	73
74	74	74	74	74	74	74	74
75	75	75	75	75	75	75	75
76	76	76	76	76	76	76	76
77	77	77	77	77	77	77	77
78	78	78	78	78	78	78	78
79	79	79	79	79	79	79	79
80	80	80	80	80	80	80	80
81	81	81	81	81	81	81	81
82	82	82	82	82	82	82	82
83	83	83	83	83	83	83	83
84	84	84	84	84	84	84	84
85	85	85	85	85	85	85	85
86	86	86	86	86	86	86	86
87	87	87	87	87	87	87	87
88	88	88	88	88	88	88	88
89	89	89	89	89	89	89	89
90	90	90	90	90	90	90	90
91	91	91	91	91	91	91	91
92	92	92	92	92	92	92	92
93	93	93	93	93	93	93	93
94	94	94	94	94	94	94	94
95	95	95	95	95	95	95	95
96	96	96	96	96	96	96	96
97	97	97	97	97	97	97	97
98	98	98	98	98	98	98	98
99	99	99	99	99	99	99	99
100	100	100	100	100	100	100	100

Abb. 9) Lochkarte

Objektträger, der entsprechend etikettiert ist, fixiert worden.

c) Auswertungsmodus, Grade der Kariesläsionen

Die Auswertung mit Hilfe eines Aufsichtsmikroskopes (25 - fache Vergrößerung) wurde von zwei Prüfern (P.Riethe und W.Zilz) durchgeführt, die in der Methodik geschult waren und zudem eine Gruppenzugehörigkeit der Präparate nicht kannten. Bei Diskrepanzen in der Bewertung wurde nach Absprache eine Einigung erzielt, wogegen von statistischer Seite nichts einzuwenden war.

Die Kariesstatistik strebt nach klaren Typeneinteilungen. Nach Th.Hürny (1964) unterscheidet man drei Typen: 1. Kariesbefall

2. Kariesintensität

3. Kariesaktivität

In den später folgenden Tabellen sind alle Zahlen auf den 3.Typus, also Kariesaktivität, zurückzuführen. Es seien kurz die Läsionsgrade nach K.G.König, Th.Marthaler und H.R.Mühlemann (1957 / 1958) angegeben, wobei aus Vereinfachungsgründen der alte Grad B in B_2 , der alte Grad T in B_1 umbenannt wurden.

Vier Grade der Kariesläsionen sind zu unterscheiden: (Abb. 8)

- 1) Grad A : Farbreaktionen sind nur auf den Schmelz beschränkt, bei intakter Schmelzoberfläche und nicht angefärbter Schmelz - Dentin - Grenze.
- 2) Grad B_1 : verstärkte Farbreaktion lediglich an der Schmelz - Dentin - Grenze.
- 3) Grad B_2 : Farbreaktion an und jenseits der Schmelz - Dentin - Grenze.
- 4) Grad C : Intensive Farbreaktion in der Dentintiefe, Abhebung des Schmelzes, beginnende Kavi-tation.

Der Grad B_2 wird in Übereinstimmung mit F.L.Losee, I.L.Nemmes (1954) und K.G.König, Th.Marthaler und H.R.Mühlemann (1957) als frühestes definitives Stadium der Karies bewertet.

Unausgereifter Schmelz, vorwiegend in der Nähe von Approximalseiten, färbt sich ähnlich wie Grad A, wird jedoch in den Auswertungen nicht berücksichtigt.

Es seien kurz zwei Auswertungen beschrieben:

1) Transversale Auswertung: hierbei wird jeder einzelne Läsionsgrad, also A, B_1 , B_2 , C gesondert in den 12 Rissuren des Unterkiefers gezählt.

2) Die longitudinale Auswertung: hierbei wird von dem Gedanken ausgegangen, daß z.B. der Läsionsgrad C irgendeinmal das Anfangsstadium Grad A, danach den Grad B_1 und B_2 durchlaufen haben muß. Folglich werden bei diesem " Totaldurchlaufen ", die longitudinale Auswertung heißt auch so, alle Läsionsgrade, die vor dem Grad C stehen, mitgezählt.

Aus diesen Zahlen kann man ersehen, wieviele Läsionsgrade A sich in andere entwickelt haben.

Die Läsionsgrade zusammen mit den übrigen Daten des einzelnen Tieres wurden auf Lochkarten übertragen (Abb. 9).

V. Enzyme

1) Allgemeines

a) Definition der Enzyme

Da es sich bei der zu untersuchenden Zahnpaste um ein Enzympräparat auf der Basis von proteolytischen Fermenten - Trypsin und Chymotrypsin - handelt; soll einiges Prinzipielles über diese Wirkstoffe ausgesagt werden in Anlehnung an die physiologisch - chemischen Ausführungen von E. Lehnartz (1959).

Im Jahre 1897 wurden die Begriffe Fermente und Enzyme gleich gesetzt; zuvor nahm man an, daß Enzyme Wirkstoffe seien, die an die Zelleinheit gebunden seien, während Fermente sezerniert würden.

Ein Ferment ist ein Wirkstoff, der nicht nur Reaktionen im Stoffwechsel beschleunigt, sondern vielfach überhaupt erst einleitet. Zusätzlich hat das Ferment eine Substrat- und Wirkungsspezifität. Das heißt, das Ferment braucht einen bestimmten Reaktionsteilnehmer und reagiert mit ihm an ganz bestimmten Stellen. Die Zusammensetzung der Fermente ist meist noch nicht bekannt; man weiß jedoch, daß sie Eiweißkörper darstellen. Jedes Ferment setzt sich aus zwei Einheiten zusammen:

Co - Ferment + Apo - Ferment = Holo - Ferment

b) Wirkungsweise

Die Wirkung der Fermente besteht darin, die Aktivierungsenergie herabzusetzen. Daher nimmt man an, daß das Ferment und das Substrat eine Zwischenverbindung eingehen, wobei die Aktivierungsenergie herabgesetzt wird.

Substrat + Ferment $\longrightarrow$ Spaltprodukt + Energie

Diese Reaktion unterliegt bei Fermenten nicht immer dem Massenwirkungsgesetz, wobei sich ein Gleichgewichtszustand der Reaktionsteilnehmer einstellt und sich auch aus dem Spaltprodukt rückläufig wieder das vollständige Substrat bilden kann.

Dies ist einleuchtend, wenn man bedenkt, daß viel Energie benötigt wird, den Vorgang rückläufig zu gestalten.

c) Abhängigkeit der Umsatzgeschwindigkeit eines Enzyms

In der Regel genügen geringere Fermentkonzentrationen, ein Substrat umzuwandeln. Jedes Fermentmolekül zerlegt pro Minute eine bestimmte Menge Substratmoleküle; dies nennt man Umsatzzahl (turnover number).

Die Umsatzgeschwindigkeit hängt von folgenden Faktoren ab:

- 1) Substratkonzentration
- 2) pH - Wert
- 3) Temperatur
- 4) Ionen (Art und Menge)
- 5) Milieu fördernde und hemmende Einflüsse.

ad 1) Bei Erhöhung der Substratmenge steigt zunächst die Fermentaktivität; bei weiterer Vermehrung sinkt die Aktivität wieder ab. Wahrscheinlich geht das Ferment mit dem Spaltprodukt wegen seiner Affinität eine vorübergehende Verbindung ein und wird somit dem Substrat entzogen.

ad 2) Die Aktivität des Fermentes ist vom pH - Wert stark abhängig. Jedes Ferment besitzt sein eigenes pH - Optimum.

Nach E. Lehnartz (1959) bauen sich zwei Theorien darauf auf:

Michaelis glaubt die Fermente als Elektrolyte

auffassen zu müssen, wobei je nach pH - Wert entweder das Ferment - Ion oder das undissoziierte Ferment vorliegt.

Northrop nimmt hingegen an, daß der pH - Wert nur die Ladung des Substrates ändere, während das Ferment unverändert bliebe.

Auf jeden Fall ist es bemerkenswert, daß Fermente gleicher Wirkungsweise, aber verschiedener Herkunft verschiedene Wirkungsgrade bei gleichen Bedingungen aufweisen.

Z.B. die verschiedenen Amylasen:

Amylase	Ursprungsort	pH - Optimum
Amylase	Pankreas	6,0
Amylase	Speichel	5,6 - 6,5
Amylase	Darm	7,0

Es könnte jedoch der pH - Wert von Beimengungen anderer Stoffe abhängig sein.

ad 3) Eine Temperaturerhöhung bewirkt eine Steigerung der Fermentaktivität nach der RGT - Regel (Reaktionsgeschwindigkeit - Temperatur - Regel), bei der eine Temperaturerhöhung von 10°C die Reaktionsgeschwindigkeit verdoppelt; jedoch bei Temperaturen über 40°C sind irreversible Schädigungen der Fermente infolge Denaturierung der Eiweißkörper möglich.

ad 4) Die Aktivität ist von bestimmten Ionen und Konzentrationen derselben abhängig. So wird beispielsweise die Aktivität tierischer Amylasen bei optimalem pH - Wert durch Zugabe von Kochsalz (NaCl), und Kaliumchlorid (KCl) erhöht. Wahrscheinlich handelt es sich um eine Anionenwirkung, wobei sich das Chlorion mit dem Ferment vereinigt.

ad 5) Spezifische Aktivierungsstoffe oder auch Hemmstoffe der Fermente, die in ihrer chemischen Struktur meist unbekannt sind, werden als Effektoren bezeichnet. Z.B. wird Kathepsin durch Ascorbinsäure aktiviert.

2) Spezielles

a) Enzyme in der Mundhöhle

Nach H. Chauncey (1955) sind für die Herkunft der Fermente in der Mundhöhle folgende Möglichkeiten gegeben:

- 1) Speicheldrüsen
- 2) Bakterien
- 3) orales Gewebe
- 4) verabfolgte Substanzen

Es sind eine große Anzahl von Fermenten in der Mundhöhle gefunden worden, die jedoch nicht von allen Autoren anerkannt werden.

So werden neben organischen und anorganischen Bestandteilen des menschlichen Speichels nach H. Chauncey (1955) zusammenfassend folgende Fermente genannt, wobei der pH - Wert zwischen 6,0-7,0 liegt:

Amylase, Invertase, Maltase, Uerese, Oxydase, Katalase, Proteasen, Lipase, Phosphatase (saure und alkalische), Hyaluronidase, Karboanhydrase.

b) Wirkungsweise der Fermente in der Mundhöhle

Die oralen Fermentwirkungen und ihre Beziehungen zu Kariesprozessen sind in letzter Zeit vielfach untersucht worden.

Die Fermente der Mundhöhle beginnen die Nahrungsbestandteile bereits von makromolekularen Einheiten in mikromolekulare umzuwandeln. Manchmal werden diese Wirkstoffe nur dem Speichelbrei beigemischt und entfalten ihre Wirkung im Magen - Darmtrakt, was ja

auch infolge der kurzen Verweildauer der Speisen in der Mundhöhle einleuchtend ist. Auf jeden Fall greifen sie in den großen Chemismus der Resorptionsmöglichkeit und damit der Herstellung körpereigener Substanz ein.

Da nun Fermente im Munde Substrate abbauen können, ist es möglich, daß eine Einheit in Größe eines Moleküls entsteht. Somit wäre ein ausgezeichnete Nährboden für Bakterien, die beispielsweise in Form der anaeroben Glykolyse Milchsäure erzeugen können, gegeben.

Es konnte von F.Bramstedt und R.Naujoks (1962) nachgewiesen werden, daß Kohlehydrate bis zur Glucose in der Mundhöhle abgebaut werden können. Jetzt wird jedoch bei kariesresistenten Menschen die Glucose im intermediären Stoffwechsel über Brenztraubensäure entweder zwecks Energiegewinnung in den Zitronensäurezyklus überführt oder aber zu einer Aminosäure umgewandelt.

Dieser geschilderte Chemismus im Sinne der aeroben Glykolyse fehlt zum größten Teil bei kariesanfälligen Menschen, und es kommt zur anaeroben Glykolyse durch Mundbakterien, deren Endprodukt die dehydrierte Brenztraubensäure, nämlich Milchsäure, ist.

Diese Säure wäre im Sinne der Miller'schen Theorie eine Kariesursache.

Die gleichen Autoren konnten zeigen, daß Fluor - Ionen nicht nur eine Schmelzhärtung, sondern auch eine Steigerung der Fermentaktivität bewirken, die die aerobe Glykolyse begünstigen kann.

Im Sinne der Proteolysis - Chelationstheorie haben zuvor H.Hansen und H.Schmidt (1958) Versuche durchgeführt. Sie konnten nachweisen, daß an entkalkten Zähnen eine 0,5%ige Pepsin - Lösung das

organische Dentin zerstört, eine 0,5%ige Trypsin - Lösung dagegen nicht. Läßt man jedoch zuerst 0,5%iges Pepsin und danach 0,5%iges Trypsin einwirken, so wird das Dentin auch vom Letzteren zerstört. Hierbei setzt Trypsin die Arbeit von Pepsin fort, ähnlich wie im Magen - Darm - Trakt.

Es sollte mit diesen ausführlichen Hinweisen gezeigt werden, daß das Fermentgemisch der Mundhöhle sicherlich eine zentrale Stellung in bezug auf die Kariesentstehung einnimmt. Es wird außerdem verständlich, daß bei der Kariesprophylaxe einmal der Versuch unternommen wurde, die Fermente zu inaktivieren, das andere Mal die Fermentaktivität zu erhöhen.

Die Antienzyme - Präparate in Zahnpasten und Kaugummis sollen in die Fermentkette des Kohlenhydratabbaues eingreifen, um eine Säurebildung zu vermeiden.

Nach F.I.Bassard (1955) und I.H.Shaw (1959) brachten diese Inhibitoren keinerlei Erfolg; ebenso erfolglos blieb die Anwendung von Antibiotika in Zahnpasten, um den Bakterienkomplex wegen Bildung organischer Säuren auszuschalten.

K.W.Zilz (1965) konnte zeigen, daß Fermentzahnpasten mit einer bestimmten Kombination (1%ige Amylase und 0,5%ige Trypsin) bei der Zahnsteinprophylaxe wirksam waren. Die Wirkung besteht darin, die organische Matrix, die vorwiegend aus Kohlenhydraten und Eiweißkörpern besteht, enzymatisch abzubauen. Es dürfen jedoch noch keine Kalksalze in der Matrix ausgefällt sein.

c) Angewandte Enzympaste auf der Basis von Trypsin und Chymotrypsin

Die Zusammensetzungen der zu prüfenden und der Placebo - Paste waren folgende:

Placebo - Paste: schäumende Paste auf Phosphatbasis, versehen mit Bindemitteln und Putzkörpern.

Enzym - Paste: schäumende Paste auf Phosphatbasis, Bindemittel und Putzkörper; Zusatz von proteolytischen Fermenten, und zwar von Trypsin und Chymotrypsin. 1g Paste enthält 300 Gross - Fuld - Einheiten an Trypsin und Chymotrypsin.

Es sei kurz auf das Wesen der beiden Fermente eingegangen.

Beide stammen aus dem Pankreas; sie sind den Endopeptidasen - sie spalten die Peptidbindungen im Innern der Eiweißmoleküle - zuzuordnen und liegen als inaktive Vorstufen im Organismus vor. Die inaktive Form des Trypsins heißt Trypsinogen und wird im Darm durch Enterokinase in die aktive Form Trypsin überführt. Die Aktivierung erfolgt außerdem durch sogenannte autokatalytische Umwandlung; hierbei können geringste, aktive Trypsinmengen ebenso wie ein Zerfall einer Trypsin - Inhibitor - Verbindung die Aktivierung auslösen. Eine zusätzliche Aktivitätssteigerung wird durch Ammonsulfat und Magnesiumsulfat, eine Hemmung durch Blausäure, Schwefelwasserstoff und Glutathion erreicht. Trypsin kann auch durch eine Cellulosemembran (Pflanzenzellmembran) dringen und Eiweiße aus der Zelle lösen. Wie alle anderen Peptidasen kann auch sie keine Gerüsteiweiße, also vorwiegend Keratine, Kollagene - beide sind Bestandteile der Schmelzcutikula - fermentativ spalten.

Trypsin kann an Stelle der Thrombokinase bei der Blutgerinnung Prothrombin in Thrombin umsetzen. Trypsin hat sein pH - Optimum bei 8,0 - 11,0 und ist nicht stark substratspezifisch.

Chymotrypsin spaltet nicht nur Eiweiße, sondern trägt zur Gerinnung des Caseins - vorwiegend in Milchprodukten - bei.

Die inaktive Form, das Chymotrypsinogen, wird durch Trypsin allein in die verschiedenen Formen des aktiven Chymotrypsins überführt. Das pH - Optimum liegt bei 7,0 - 8,0.

d) Speichelverhältnisse der Ratte

Die Angaben über die oralen Verhältnisse der Ratte sind schwer zu ermitteln.

Die Temperaturen mit einem Sekundenthermometer gemessen an jungen Ratten schwanken zwischen 36,2 - 36,9°C; der pH - Wert des Speichels liegt zwischen 8,4 - 8,6 (Temperatur und pH - Wert eigene Messungen).

Nach F.Jacoby und C.R.Leeson (1959) liegen die Ionenverhältnisse bei Mikropunktionsuntersuchungen der Glandula submandibularis junger Ratten beispielsweise von Na^+ bei 3400 mg/l, von Cl^- bei 4100 - 4360 mg/l. Es ist anzunehmen, daß die Konzentration im endgültigen Speichel der des menschlichen Speichels nach E.Lehnartz (1959) von Na^+ 300 - 1150 mg/l und Cl^- 370 - 940 mg/l gleichkommt.

An Fermenten sind im Rattenspeichel nach W.S.Spector (1956) zu verzeichnen: Aconitase, Adenosintriphosphatase, β - D - Glucosidase, β - D - Galactosidase, Phosphorprotein - Phosphatase.

e) Chemische Struktur des Futters

Da beide Fermente speziell Eiweißkörper spalten, soll kursorisch die Diät 580 nach Stephan (66% Rohrzucker, 32% Magermilchpulver, 2% Schweinetrockenleber) chemisch analysiert werden.

Die Herstellerfirmen der Rohprodukte geben nur Annäherungswerte an; dementsprechend sind folgende Daten zu verstehen.

- 1) Rohrzucker (Saccharase): ist ein Disaccharid,
chemisch ein Glucosido - β - fructosid.
- 2) Trockenmilchpulver⁺:
in 100g sind enthalten ($\pm$ 5%)
23,6 g Fett
15,7 g Eiweiß (vorwiegend Casein)
59,2 g Kohlenhydrate (Milchzucker
und hohe KH)
2,8 g Mineralien (K, Na, Ca, Mg,
Fe, P, Cl)
außerdem Vitamine
- 3) Trockenleber: hierüber liegen keine konkreten
Zahlen vor, was auch für die Gesamt-
beimengung der Kost von nur 2% keine
wesentliche Rolle spielt.
Sie enthält: Fett, kohlenhydrat,
Eiweiß, Vitamine, Mineralien: Fe, Cu,
Mn, Zn.

f) Angriffsweise und Aktivität der verwendeten Enzyme bei Mensch und Ratte

Da bei der Versuchsgruppe mit enzymhaltiger Zahnpaste

⁺umgerechnet nach Angaben der Herstellerfirma
Pomps G.m.b.H., Cuxhaven

insgesamt weniger Läsionen auftreten, was im VI. Abschnitt " Ergebnisse " gezeigt wird, muß der Wirkungsmechanismus der Fermente erläutert werden. Es werden von Trypsin und Chymotrypsin nur Eiweißkörper angegriffen. Beide spalten die makromolekularen Eiweiße zu kleineren Einheiten, teilweise sogar bis zu den Aminosäuren hinunter.

Wahrscheinlich kann ein kleines Molekül vom Speichel besser weggespült werden als ein größeres. So wird den Belägen an den Zähnen Substanz und damit gleichzeitig den Mundbakterien ein wesentlicher Nährboden entzogen.

Ein Vergleich zwischen Mensch und Tier ist in bezug auf die Fermentaktivität im oralen Bereich angebracht. Aus dem Abschnitt über Fermente geht hervor, daß die oralen Verhältnisse der Ratte, was Temperatur und pH - Wert anbelangen, im Optimalbereich von Chymotrypsin und Trypsin liegen. Beim Menschen ist hingegen der eher saure Speichel ungünstig zu werten. Casein, ein Hauptbestandteil des Futtereweißes, ist speziell für Chymotrypsin ein Angriffsziel, was infolge des Substratangebotes eine Aktivitätssteigerung bedeutet. Die Magnesiumionen der Milch wiederum aktivieren Trypsin zusätzlich.

Spezielle Inhibitoren sind sowohl beim Menschen als auch bei der Ratte nicht bekannt.

Die Futterzusammensetzung hinsichtlich des Eiweißes entspricht nicht der Nahrung des Menschen, was erstens wegen des doppelten Blindversuches, der zum Versuchsende ein proteolytisches Enzymgemisch in der Zahnpaste ergab, und zweitens wegen der Notwendigkeit der kariogenen Kost schwer zu berücksichtigen ist.

Nach E. Lehnartz (1959) verbraucht der Mensch pro Tag:

80,0 g Eiweiß
118,0 g Fett
366,0 g Kohlenhydrat

Diese Angaben werden in Hinblick auf das Eiweiß auf 1000g Gesamtnahrung umgerechnet; ebenso das kariogene Rattenfutter.

Eiweißmenge in 1000g Nahrung

Mensch	141,00 g Eiweiß
Ratte ⁺	51,20 g Eiweiß

Das Eiweißangebot könnte annähernd dreimal höher bemessen sein, wodurch auch die Fermentaktivität erhöht wird. Vielleicht wäre dann eine eklatantere Kariesreduktion im Tierexperiment zu beobachten gewesen.

⁺Aus oben angeführten Gründen wird die Eiweißmenge der Trockenleber, die entbehrlich ist, nicht erfaßt. Alleine das Eiweiß aus der Trockenmilch wurde mit rund 16g in 100g Substrat berechnet.

VI. Ergebnisse

a) Zahlenmäßige Erfassung der Kariesläsionen

Wie aus dem Abschnitt " Grade der Kariesläsionen, Auswertungsmodus " hervorgeht, wurden die Läsionen mit den weiteren Versuchsdaten eines jeden Tieres auf Lochkarten übertragen (Abb. 9).

Es sind im Unterkiefer bei den ersten und zweiten Molaren (M_1 und M_2 abgekürzt) insgesamt 12 Fissuren auf den Kariesgrad hin untersucht worden. Da jedoch beim zweiten Molaren in der mesialen Fissur bei keinem Tier ein kariöser Defekt feststellbar war, wurde diese Fissur sowohl links als auch rechts nicht berücksichtigt; somit sind zehn Fissuren im Unterkiefer in den Tabellen 1, 2, 3 verzeichnet.

Da nun jeder Zahn kariöse Defekte und in der Regel auch jede Fissur - eine Ausnahme macht gelegentlich die distale Fissur des zweiten Molaren - aufweisen, müssen Läsionen der Schwere entsprechend, was oben ausführlich beschrieben wurde, eingeteilt werden. Es werden vier Grade (A, B_1 , B_2 , C) unterschieden. Diese Grade erhalten gemäß ihrer Schwere Zahlen; in diesem Fall $A = 1$, $B_1 = 2$, $B_2 = 3$, $C = 4$.

In den Tabellen 1, 2, 3 ist somit die Schwere des kariösen Prozesses zahlenmäßig charakterisiert. Jede Versuchsgruppe à 20 Tiere wird so dargestellt, daß jedes Tier gemäß seiner Kariesschwere aufgezählt wird.

- Gruppe I wurde mit einer Enzym - Zahnpaste, Gruppe II mit einer Placebo - Zahnpaste, die einer üblichen Handelspaste entsprach, und Gruppe III mit Aqua destillata behandelt.

Aus den Tabellen 1, 2, 3 kann man das Wesentlichste des Versuches entnehmen. In der Horizontalen sind die Läsionsschweren der einzelnen Fissuren, der einzelnen Molaren und der Unterkieferhälften gesondert und insgesamt eines jeden Versuchstieres zusammengestellt.

In der Vertikalen sind die Defekte der Gruppe nach Lokalisationsort gesondert und insgesamt zu ersehen.

Aus den Tabellen geht hervor, daß rechte und linke Unterkieferhälfte gleich stark befallen sind, wobei die einander entsprechenden Fissuren keine wesentlichen, verschiedenen Zahlenwerte aufweisen, was auch zu erwarten war. Die Endsumme der gesamten Läsionsschwere nimmt von Gruppe I (408) über Gruppe II (440) nach Gruppe III (484) zu, was auf eine Wirksamkeit der Enzym - Paste gegenüber der Placebo - Paste, und letztere gegenüber Aqua destillata hinweist.

Der Mittelwert der Läsionsschwere der linken und rechten Kieferhälfte eines Tieres beträgt bei Gruppe I $\bar{x} = 20,4$, bei Gruppe II $\bar{x} = 22,0$, bei Gruppe III $\bar{x} = 24,2$.

b) Standardabweichung des Mittelwertes

Zunächst soll die Versuchsstreuung durch Meßungenauigkeit nach G.Kuschinsky und H.Lüllmann (1964) erläutert werden: zeigen sich bei einem Meßvorgang bei wiederholtem Messen verschiedene Werte, so wird ein Mittelwert errechnet, um den sich jetzt die verschiedenen Werte gruppieren. Diese Erscheinung heißt Streuung. Der errechnete Mittelwert ist ungenau; er weist eine Unsicherheit auf, als dessen quantitatives Maß

Gruppe I (Enzym - Paste)

Tabelle 1

Tier. NR.	Kiefer rechts								Kiefer links								Ges. re. + li.K. +
	2.Molar			1.Molar			Ges. re. K.	1.Molar			2.Molar			Ges. li. K.			
	F ₂	F ₁	Ges. M ₂	F ₃	F ₂	F ₁		Ges. M ₁	F ₁	F ₂	F ₃	Ges. M ₁	F ₁		F ₂	Ges. M ₂	
1	-	3	3	1	4	2	7	10	2	3	1	6	3	-	3	9	19
2	-	4	4	1	3	3	7	11	3	3	1	7	2	1	3	10	21
3	-	3	3	1	4	2	7	10	3	3	1	7	3	-	3	10	20
4	1	3	4	-	3	3	6	10	3	3	-	6	3	1	4	10	20
5	-	3	3	1	3	3	7	10	3	4	1	8	3	1	4	12	22
6	-	3	3	1	3	3	7	10	3	3	1	7	3	-	3	10	20
7	-	3	3	1	3	4	8	11	3	3	-	6	3	2	5	11	22
8	2	4	6	1	3	3	7	13	3	3	1	7	3	1	4	11	24
9	-	4	4	2	4	3	9	13	3	3	1	7	3	1	4	11	24
10	-	3	3	1	4	3	8	11	3	3	1	7	3	1	4	11	22
11	1	4	5	1	3	3	7	12	3	4	1	8	4	1	5	13	25
12	1	3	4	1	4	3	8	12	3	3	1	7	3	-	3	10	22
13	1	2	3	-	3	2	5	8	3	2	-	5	3	1	4	9	17
14	1	2	3	1	3	3	7	10	3	3	-	6	3	1	4	10	20
15	-	3	3	-	3	2	5	8	3	3	1	7	2	-	2	9	17
16	1	3	4	-	3	3	6	10	4	3	-	7	3	1	4	11	21
17	-	3	3	1	3	3	7	10	1	3	1	5	3	1	4	9	19
18	-	2	2	-	3	2	5	7	2	3	-	5	2	-	2	7	14
19	-	2	2	1	3	3	7	9	3	3	1	7	3	-	3	10	19
20	1	3	4	1	3	2	6	10	2	3	1	6	3	1	4	10	20
End- summe	9	60	69	16	65	55	136	205	56	6	14	131	58	14	72	203	408

+ Läsionsschwere der linken und rechten Kieferhälfte
Mittelwert der Läsionsschwere der linken und rechten Kiefer-
hälfte pro Tier = $\bar{x}$ = 20,4
Standardabweichung des Mittelwertes = $s_{\bar{x}}$ = 0,58

Gruppe II (Placebo - Paste = Handelspaste)

Tabelle 2

Tier NR.	Kiefer rechts								Kiefer links								+ Ges. re. + li.K.
	2.Molar			1.Molar			Ges. re. K.	1.Molar			2.Molar			Ges. li. K.			
	F ₂	F ₁	Ges. M ₂	F ₃	F ₂	F ₁		Ges. M ₁	F ₁	F ₂	F ₃	Ges. M ₁	F ₁		F ₂	Ges. M ₂	
41	1	3	4	1	3	2	6	10	3	4	1	8	3	1	4	12	22
42	1	3	4	1	3	2	6	10	2	3	1	6	3	1	4	10	20
43	1	3	4	1	3	3	7	11	3	3	1	7	3	1	4	11	22
44	1	3	4	1	3	3	7	11	3	3	1	7	3	1	4	11	22
45	1	3	4	1	3	3	7	11	2	3	1	6	3	1	4	10	21
46	-	3	3	1	2	3	6	9	3	2	1	6	2	-	2	8	17
47	3	3	6	1	3	3	7	13	3	3	1	7	3	1	4	11	24
48	1	3	4	2	3	3	8	12	3	3	1	7	3	1	4	11	23
49	1	3	4	1	3	3	7	11	3	3	1	7	3	1	4	11	22
50	2	3	5	2	4	3	9	14	3	4	2	9	3	2	5	14	28
51	1	3	4	-	3	3	6	10	3	3	1	7	3	-	3	10	20
52	1	3	4	1	3	3	7	11	3	3	2	8	3	-	3	11	22
53	-	3	3	1	3	3	7	10	3	3	1	7	3	1	4	11	21
54	-	3	3	2	3	3	8	11	3	4	2	9	3	1	4	13	24
55	-	3	3	1	3	3	7	10	2	3	1	6	2	-	2	8	18
56	1	3	4	1	3	3	7	11	3	2	1	6	3	1	4	10	21
57	1	3	4	2	3	3	8	12	3	3	2	8	3	2	5	13	25
58	2	3	5	1	3	3	7	12	3	3	1	7	3	1	4	11	23
59	1	3	4	1	3	3	7	11	3	3	1	7	3	-	3	10	21
60	1	3	4	1	3	3	7	11	3	3	2	8	3	2	5	13	24
End- summe	20	60	80	23	60	58	141	221	57	61	25	143	58	28	76	219	440

+ Läsionsschwere der linken und rechten Kieferhälfte
Mittelwert der Läsionsschwere der linken und rechten Kiefer-
hälfte pro Tier = $\bar{x} = 22,0$
Standardabweichung des Mittelwertes = $s_{\bar{x}} = 0,54$

Gruppe III (Aqua destillata)

Tabelle 3

Tier NR.	Kiefer rechts								Kiefer links								Ges. re. + li.k.
	2.Molar			1.Molar			Ges. re. K.	1.Molar			2.Molar		Ges. li. K.				
	F ₂	F ₁	Ges. M ₂	F ₃	F ₂	F ₁		Ges. M ₁	F ₁	F ₃	Ges. M ₁	F ₁		F ₂	Ges. M ₂		
81	1	3	4	1	4	3	8	12	3	1	8	3	1	4	12	24	
82	2	3	5	1	3	3	7	12	3	2	8	3	2	5	13	25	
83	1	3	4	2	4	3	9	13	3	2	9	3	1	4	13	26	
84	1	3	4	2	4	3	9	13	2	1	6	3	1	4	10	23	
85	-	3	3	1	3	2	6	9	2	2	7	3	-	3	10	19	
86	2	3	5	1	3	3	7	12	3	2	9	3	2	5	14	26	
87	1	3	4	2	3	4	9	13	3	2	9	3	2	5	14	27	
88	2	3	5	2	3	3	8	13	3	1	7	3	2	5	12	25	
89	2	3	5	2	3	4	9	14	3	1	7	3	1	4	11	25	
90	1	3	4	2	4	3	9	13	3	2	9	3	2	5	14	27	
91	1	3	4	2	3	3	8	12	4	1	8	3	1	4	12	24	
92	2	3	5	2	3	3	8	13	3	1	7	3	1	4	11	24	
93	1	3	4	2	3	3	8	12	3	2	8	4	1	5	13	25	
94	1	3	4	1	3	3	7	11	3	1	7	3	1	4	11	22	
95	1	3	4	2	3	3	8	12	3	2	8	3	2	5	13	25	
96	1	3	4	3	3	3	9	13	3	2	8	3	2	5	13	26	
97	1	3	4	1	3	3	7	11	3	1	7	3	2	5	12	23	
98	2	3	5	2	3	2	7	12	2	1	6	3	1	4	10	22	
99	2	3	5	2	3	3	8	13	3	2	8	4	1	5	13	26	
100	1	3	4	1	3	3	7	11	3	1	6	3	-	3	9	20	
End- summe	26	60	86	34	64	60	158	244	58	30	152	62	26	88	240	484	

*Läsionsschwere der linken und rechter Kieferhälfte
Mittelwert der Läsionsschwere der linken und rechten Kiefer-
hälfte pro Tier = $\bar{x} = 24,2$
Standardabweichung des Mittelwertes = $s_{\bar{x}} = 0,48$

oft die Varianz (s^2)⁺ angegeben wird.

In der Biologie ist diese Streuung jedoch noch verstärkter, da außer der Meßtechnik noch Individuen hinzukommen. Individuen gleicher Spezies weisen immer Unterschiede auf; sei es physischer oder psychischer Natur. Diesen Komplex faßt man unter dem Begriff der biologischen Streuung zusammen.

Diese biologische Streuung möglichst klein zu halten, war der Sinn der Standardisierung der Versuchsbedingungen und Umwelteinflüsse der Experimentiertiere, was oben ausführlich besprochen wurde.

Zur Errechnung der Standardabweichung des Mittelwertes wurde folgende Formel angewandt:

$$(1) \quad s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

Wie bereits erwähnt, lautet die Varianz (siehe Fußnote):

$$(2) \quad s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}$$

Folglich kann man Formel (1) durch Formel (2) folgendermaßen ausdrücken:

$$(3) \quad s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n(n - 1)}}$$

⁺Varianz: Summe der Abweichungsquadrate dividiert durch die Anzahl der Messungen - 1.

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}$$

Formel (3) liegt den Berechnungen zur Standardabweichungen des Mittelwertes der drei Gruppen zugrunde.

Erläuterungen zu den Formeln:

s = Standardabweichung des Mittelwertes

$\bar{x}$
 n = Anzahl der Tiere pro Gruppe

$\sum$ = Summe

x_i = Läsionsschwere der linken und rechten Kieferhälfte eines Tieres

$\bar{x}$ = Mittelwert der Läsionsschwere der linken und rechten Kieferhälfte eines Tieres pro Gruppe

Die Standardabweichungen des Mittelwertes ($s_{\bar{x}}$) sind in den Tabellen 1, 2, 3 zusammengestellt.

c) Mathematisch - statistische Auswertung

In den Tabellen 4, 5, 6 sind die Läsionsschweren der rechten und linken Kieferhälfte - aus den Tabellen 1 - 3 ersichtlich - eines jeden Tieres mit Hilfe des Rang - Testes nach Wilcoxon für unverbundene Stichproben (S.Koller (1955)) geprüft.

Unverbundene Stichproben deshalb, weil die Enzym - Paste an einer anderen Versuchsgruppe wie die Placebo - Paste, und diese wiederum an anderen Tieren wie Aqua destillata angewendet wurden.

Tabelle 4 ist beispielsweise folgendermaßen angeordnet: es erhalten die Gruppe I und Gruppe II nach zunehmender Läsionsschwere (Spalte (1)) Rang - Nummern (Spalte (2)); also die kleinste Läsionsschwere erhält Rang - Nummer 1, die zweitkleinste Rang - Nummer 2 u.s.w. Da es sich insgesamt um 40 Tiere (jede Gruppe à 20) handelt, wird auch 40 die höchste Rang - Nummer sein. Die Numerierung

erfolgt ohne Rücksicht darauf, ob die Läsionsschwere in Gruppe I oder Gruppe II vorkommt; besitzen einige Läsionsschweren den gleichen Wert, so wird gleichmäßig der Mittelwert ihrer Anordnungszahl an sie vergeben. Bei gleicher Läsionsschwere innerhalb einer Gruppe wird die Rang - Nummer fortlaufend vergeben. Bei der Gruppe mit kleinerer Fallzahl wird die Summe der Rang - Nummern gebildet; sie erhält den Index 1.

Da es sich hierbei in beiden Gruppen um die gleiche Fallzahl, nämlich 20, handelt, kann jede der Gruppen gewählt werden. Der Sinn der statistischen Prüfung sei kurz geschildert. Nimmt man aus einer Reihe der 40 Rang - Nummern häufig verschiedene 20 Rang - Nummern heraus und bildet mit diesen die Summe, so würden kombinatorisch bedingt, bestimmte Rangsummen oft, andere sehr selten auftreten. Es wird nun geprüft, ob die vorliegende Rangsumme einer Gruppe den selten auftretenden Summen zuzurechnen ist.

" Selten " heißt, daß in höchstens 1% einer großen Zahl von Versuchen dieser Wert auftritt. Ist dies der Fall, so wird die Hypothese zufälliger Entnahme (0 - Hypothese) abgelehnt. 1% ist somit die sogenannte Irrtumswahrscheinlichkeit (P); d.h. in höchstens 1% verwerfen wir die Zufallshypothese, obwohl sie auftreten könnte.

Mit Hilfe einer Tabelle des Wilcoxon - Testes (I.Geigy, Wissenschaftliche Tabellen, 1960 S.124ff.) werden die Werte auf Signifikanz geprüft.

Es ergab sich aus Tabelle 5: Gruppe I (Enzym - Paste) ließ sich gegen Gruppe III (Aqua destillata) einwandfrei sichern ($P \leq 1\%$). Eine Wirkung der Enzym - Paste gegenüber dem Putzen mit Aqua destillata ist offensichtlich und nicht anzuzweifeln.

Rang - Test nach Wilcoxon

Tabelle 4

Fall NR.	<u>Gruppe I</u>		<u>Gruppe II</u>	
	(Enzym - Paste)		(Placebo - Paste)	
	Läsions- schwere re.u.li. Kiefer- hälfte (1)	Rang- NR. (2)	Läsions- schwere re.u.li. Kiefer- hälfte (1)	Rang- NR. (2)
1	14	1,0	17	3,0
2	17	3,0	18	5,0
3	17	3,0	20	12,0
4	19	6,0	20	12,0
5	19	7,0	21	18,5
6	19	8,0	21	18,5
7	20	12,0	21	18,5
8	20	12,0	21	18,5
9	20	12,0	22	26,0
10	20	12,0	22	26,0
11	20	12,0	22	26,0
12	21	18,5	22	26,0
13	21	18,5	22	26,0
14	22	26,0	23	31,0
15	22	26,0	23	32,0
16	22	26,0	24	35,0
17	22	26,0	4	35,0
18	24	35,0	4	35,0
19	24	35,0	5	38,5
20	25	38,5	8	40,0
Rang- summe		337,5		482,5
Statistisch auffällig $1\% < P < 5\%$				

Rang - Test nach Wilcoxon

Tabelle 5

Fall NR.	<u>Gruppe I</u> (Enzym - Paste)		<u>Gruppe III</u> (Aqua - destillata)	
	Läsions- schwere re.u.li. Kiefer- hälfte (1)	Rang- NR. (2)	Läsions- schwere re.u.li. Kiefer- hälfte (1)	Rang- NR. (2)
1	14	1	19	5,5
2	17	2	20	10,5
3	17	3	22	18,5
4	19	5,5	22	18,5
5	19	5,5	23	22,0
6	19	5,5	23	23,0
7	20	10,5	24	26,0
8	20	10,5	24	26,0
9	20	10,5	24	26,0
10	20	10,5	25	31,5
11	20	10,5	25	31,5
12	21	14,0	25	31,5
13	21	15,0	25	31,5
14	22	18,5	25	31,5
15	22	18,5	26	35,0
16	22	18,5	26	36,0
17	22	18,5	26	37,0
18	24	26,0	26	38,0
19	24	26,0	27	39,0
20	25	31,5	27	40,0
Rang- summe		261,5		558,5
gesichert $P \leq 1 \%$				

Rang - Test nach Wilcoxon

Tabelle 6

Fall NR.	<u>Gruppe II</u>		<u>Gruppe III</u>	
	(Placebo - Paste)		(Aqua-destillata)	
	Läsions- schwere re.u.li. Kiefer- hälfte (1)	Rang- NR. (2)	Läsions- schwere re.u.li. Kiefer- hälfte (1)	Rang- NR. (2)
1	17	1,0	19	3,0
2	18	2,0	20	5,0
3	20	5,0	22	14,0
4	20	5,0	22	14,0
5	21	7,0	23	19,5
6	21	8,0	23	19,5
7	21	9,0	24	24,5
8	21	10,0	24	24,5
9	22	14,0	24	24,5
10	22	14,0	25	30,5
11	22	14,0	25	30,5
12	22	14,0	25	30,5
13	22	14,0	25	30,5
14	23	19,5	25	30,5
15	23	19,5	26	34,0
16	24	24,5	26	35,0
17	24	24,5	26	36,0
18	24	24,5	26	37,0
19	25	30,5	27	38,0
20	28	40,0	27	39,0
Rang- summe		300,0		520,0
gesichert $P \leq 1 \%$				

In der Tabelle 6 ist Gruppe II (Placebo - Paste) gegen Gruppe III (Aqua destillata) ebenfalls klar zu sichern ($P \leq 1\%$).

Statistisch auffällig ($1\% < P < 5\%$) ist Tabelle 4, in der Gruppe I (Enzym - Paste) gegen Gruppe II (Placebo - Paste) auf Signifikanz geprüft wurde.

d) Graphische Darstellung

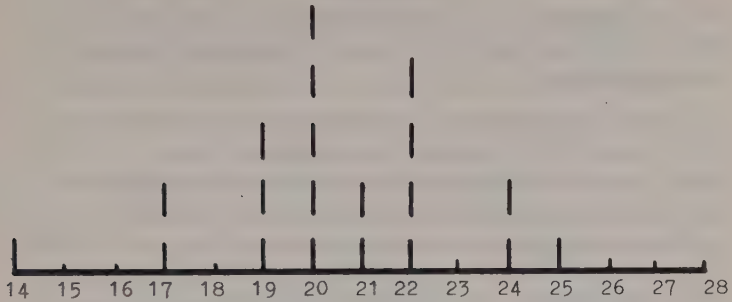
In der Tabelle 7 sind die Läsionsschweren der Tiere in der jeweiligen Gruppe graphisch dargestellt.

Die Maßzahlen (14 - 28) sind die Läsionsschweren, die den Tabellen 1, 2, 3 entnommen wurden. Die Striche charakterisieren die Tiere; haben mehrere Tiere dieselbe Läsionsschwere, so werden sie übereinander angeordnet.

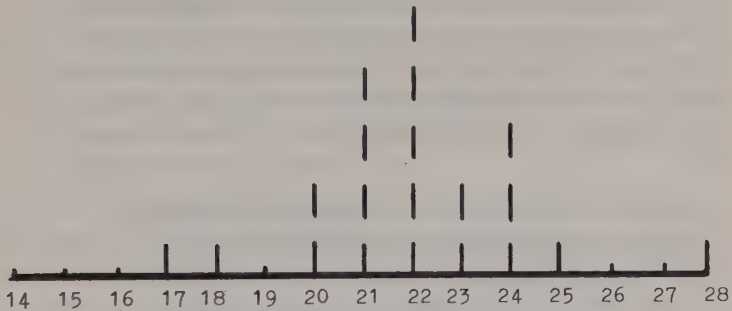
Der graphischen Aufzeichnung ist zu entnehmen, daß von Gruppe I über Gruppe II zu Gruppe III eine Rechtsverschiebung, die also eine Zunahme der Läsionsschweren beinhaltet, vorliegt.

Läsionsschwere der Tiere pro Gruppe (graphisch)

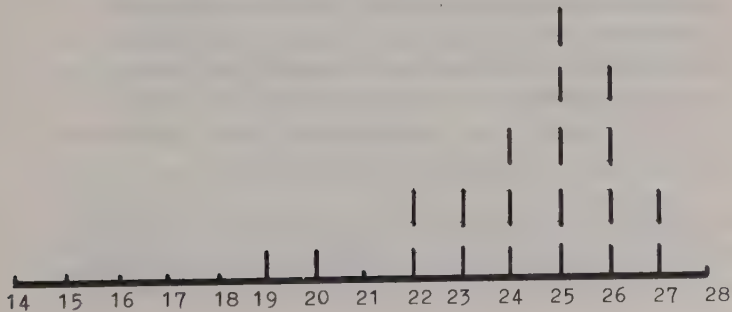
Tabelle 7



Gruppe I (Enzym - Paste)



Gruppe II (Placebo - Paste)



Gruppe III (Aqua destillata)

VII. DISKUSSION

Die vorliegende Arbeit befaßte sich mit Karieshemmstoffen in einem kurzfristig, erzeugten Rattenkariesexperiment.

In diesem Tierexperiment ist tatsächlich nach 14 - tägiger Versuchsdauer ein faßbarer Unterschied im Kariesgeschehen der verschieden behandelten Tiere an unentkalkten Zahnschliffen nach Anfärbung mikroskopisch feststellbar.

Das " Zähneputzen " der Ratten mit den zwei verschiedenen Zahnpasten und Aqua destillata sollte den Mundtoiletteverhältnissen des Menschen wegen der besseren Interpretation weitgehend angeglichen werden. Es wurden jedoch nur die occlusalen Flächen der Molaren gebürstet, was einem richtigen Zähneputzen nicht gerecht wird. Dafür wurden auch nur die occlusalen Kariesprädispositionsstellen ausgewertet.

Es handelte sich um einen doppelten Blindversuch, da erstens der Untersucher die Zusammensetzung der zu untersuchenden Pasten nicht kannte, und zweitens die mikroskopische Auswertung durch zwei Untersucher, die die Gruppenzugehörigkeit der einzelnen Präparate außerdem nicht kannten, erfolgte. Die objektive Darstellung der gefundenen Läsionsgrade dürfte etwas eingebüßt haben, da bei abweichenden Läsionsgradergebnissen der beiden Untersucher, eine Absprache erfolgte, wobei ein Grad festgelegt wurde. Von statistischer Seite war gegen diese Methode jedoch nichts einzuwenden.

Es handelte sich um eine Enzym - Zahnpaste auf der Basis von Trypsin und Chymotrypsin; beide Fermente hatten hinsichtlich ihrer Aktivität im Rattenspeichel

weitgehend optimale Bedingungen.

Die Eiweißmenge des kariogenen Futters war zu knapp bemessen. Durch eine erhöhte Eiweißmenge wäre eine weitere Aktivitätssteigerung der Fermente möglich gewesen; hierdurch wäre vielleicht die Anzahl der Läsionen verringert worden.

Die Futterzusammensetzung konnte nicht geändert werden, da infolge des doppelten Blindversuches sich erst nach Versuchsende ein substratspezifisches Enzympräparat auf Eiweiß herausstellte. Außerdem wären die kariogenen Eigenschaften des Futters in Frage gestellt worden.

Aus dem Abschnitt " Ergebnisse " ist zu ersehen, daß die Enzym - Paste verglichen mit der Placebo - Paste (Handelszahnpaste) und Aqua destillata insgesamt geringere Läsionsschweren aufkommen ließ. (Enzym - Pasten - Gruppe 408, Placebo - Gruppe 440, Aqua destillata - Gruppe 484).

Eine Hemmung der Karies durch die Ferment - Zahnpaste (1 g Paste enthält 300 Gross - Fuld - Einheiten an Trypsin und Chymotrypsin) ist wahrscheinlich.

Bei der statistischen Auswertung des Tierexperimentes (Rang - Test nach Wilcoxon) konnten zwischen den Läsionsschweren der sowohl mit Enzym - Zahnpaste als auch der mit Placebo - Zahnpaste (Handelspaste) und der mit Aqua destillata behandelten Tiere statistisch gesicherte Unterschiede ($P \leq 1\%$) nachgewiesen werden.

Da alle Tierzähne der drei Gruppen gleichmäßig mit " Zahnbürsten " geputzt wurden, ist auf Grund der statistischen Auswertung zu sagen, daß die Wirkungsweise der Zahnpasten nicht anzuzweifeln ist.

Zwischen den Läsionsschweren der mit Enzym - Zahnpaste und der mit Placebo - Zahnpaste (Handelspaste) behandelten Tiere ist ein statistisch auffälliger Unterschied ($1\% < P < 5\%$) nachzuweisen.

Eine zusätzliche Wirkung der Enzym - Paste gegenüber der Handelspaste (Placebo) ist somit auf Grund der chemischen Angriffsweise der Enzyme möglich. Beide Zahnpasten wiesen außer Fermentbeimengungen ansonsten die gleiche chemische Zusammensetzung auf.

VIII. Z U S A M M E N F A S S U N G

Es wurde die Proteolysis - Chelationstheorie in der Einleitung geschildert.

In einem Tierexperiment wurde in einem doppelten Blindversuch eine kariesprophylaktische Zahnpaste erprobt.

Es wurde ausführlich über die im Versuch angewandte, kurzfristig erzeugte Rattenkaries berichtet. Um die Interpretation der Versuchsergebnisse zu verbessern, wurde eine Putzmethode mit einer für eine Jungratte hergestellten " Zahnbürste " beschrieben.

Bei der 14 - tägigen Experimentierzeit ist eine strenge Standardisierung der Umwelteinflüsse der Versuchstiere einzuhalten.

Es folgt die Auswertungsart: nach Tötung der Tiere wurden die Unterkiefer herauspräpariert und unentkalkte Serienschliffe angefertigt; diese wurden angefärbt und mikroskopisch ausgewertet.

Bei der zu untersuchenden Zahnpaste handelte es sich um eine proteolytische Enzym - Paste auf der Basis von Trypsin und Chymotrypsin.

Die Abhängigkeit der Fermente von ihrem Milieu wurde allgemein beschrieben; die beiden Enzyme wurden darauf in ihrer Wirkungsweise bei Mensch und Ratte geschildert.

Bei der statistischen Auswertung des Tierexperimentes konnte zwischen den Läsionsschweren der mit Enzym - Zahnpaste und der mit Placebo - Zahnpaste (Handelspaste) behandelten Tiere ein statistisch auffälliger Unterschied ($1\% < P < 5\%$) nachgewiesen werden.

IX. L I T E R A T U R A N G A B E N

- Bassard, F.J. : Illusions et réalité dans l'hygiène buccale. Rev. Belge Stomatologie 52, 121 - 131 (1955).
- Bibby, B.G., Davies, G.N. : The Effect of Sugar in Various Forms on the Rate of Spread of Occlusal Caries in the Lower Molars. J.Dent. Res. 37, 570 - 580 (1958).
- Bramstedt, F., Naujoks, R. : Biochemische Kariesforschung in der Universität und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten in Hamburg seit 1949. Dtsch. zahnärztl. Z. 17, 867 - 880 (1962).
- Büttner, W., Cremer, H., Herrmann, M. : Ernährungsfaktoren bei Zahn- und Knochenbildung. Dtsch. zahnärztl. Z. 11, 984 - 994 (1956).
- Chauncey, H., Lisanti, V. : Enzymes of Human Saliva. The Determination, Distribution and Origin of Whole Saliva Enzymes. J. Dent. Res. 33, 321 (1954).
- Chauncey, H., Lisanti, V. : Whole Saliva Enzymic Activities and Characteristic Patterns Related to Oral Conditions. J. Dent. Res. 34, 708 (1955).
- Chernausek, D.S., Mitchell, D.F. : Ammoniated Dentifrices and Hamster Caries. J. Dent. Res. 30, 393 - 398 (1951).
- Mc Clure, F.I., Folk, I. : Skim Milk Powders and Experimental Rat Caries. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 83, 21 - 26 (1953).
- Eggers - Lura, H. : Die Enzyme des Speichels und der Zähne. München 1949, S. 55 - 67.

- Ennever, I., Sturzenberger, O.P. : Inhibition of Dental Calculus Formation by Use of an Enzyme - Chewing Gum. J. Periodont. 32, 331 (1961).
- Geigy, J. : Wissenschaftliche Tabellen, Documenta Geigy. 6.Aufl. Basel 1960, S. 124 ff.
- Gustafson, G., Stelling, E.M. : Experimental Dental Caries in Animals. (A Historical Review). Odont. Tidskrift 60, 31 (1952).
- Hagemann, E. : Ratte und Maus, Versuchstiere der Forschung. Berlin 1960.
- Hanson, H., Schmidt, H. : Über die Einwirkung proteolytischer Enzyme auf die organische Zahnschubstanz. Dtsch. Zahn- Mund- Kieferheilk. 28, 435-447 (1958).
- Hürny, Th. : Über die Interpretation kariesstatistischer Untersuchungsergebnisse. Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 74, 142-147 (1964).
- Jacoby, F., Leeson, C.R. : Mikropunktionsuntersuchungen an der Glandula submaxillaris junger Ratten. Journ. Anat. London. 93, 201 (1959).
- König, K.G. : Tierexperimentelle Karies. Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 71, 1050 (1961).
- König, K.G., Marthaler, Th., Mühlemann, H.R. : Zur Planung und Auswertung tierexperimenteller Kariesstudien. Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 67, 755-776 (1957).
- König, K.G., Marthaler, Th., Mühlemann, H.R. : Methodik der kurzfristig, erzeugten Rattenkaries. Dtsch. Zahn- Mund- Kieferheilk. 29, 99-127 (1958).

- König, K.G., Mühlemann, H.R. : Caries Symposium Zürich:
The Present Status of Caries Prevention by Fluorine - containing
Dentifrices. Bern 1961, S. 126 - 130.
- Koller, S. : Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse in: Hoppe - Seyler/Thierfelder: Handbuch der physiologisch-
und pathologisch - chemischen Analysen.
Berlin 1955, S. 972 f.
- Kuschinsky, G., Lüllmann, H. : Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie. 1.Aufl. Stuttgart 1964,
S. 260, S. 267.
- Lazansky, I.P. : The Effect on Hamster Caries of Toothbrushing with Various Chemicals.
J. Dent. Res. 26, 446 (1947).
- Lehnartz, E. : Einführung in die chemische Physiologie. 11.Aufl., Berlin - Göttingen -
Heidelberg 1959, S. 280 - 294, S. 317 ff.
S. 393.
- Leimgruber, Ch. : Carie dentaire. Franz. Stomatologie
11, 1 - 10 (1964).
- Leonhardt, H. : Klinische Studien über den Einfluß von
Zahnpasta durch Zähneputzen. Zahnärztl.
Welt/Reform, 62, 546 - 552 (1961).
- Lipp, W. : Histochemische Methoden. Oldenburg
und Gratz 1954; zit. nach König, K.,
Marthaler, Th., Mühlemann, H.R., Dtsch.
Zahn- Mund - Kieferheilk. 29, 99 (1958).
- Losee, F.L., Nemmes, J.L. : Human Type Caries Distribution
in Osborne - Mendel Rats Kept on
Heated Skim Milk Powder Diet. Proc.
Soc. Exper. Biol. Med. 87, 429 - 431
(1954).

- Martin, J., Schatz, A. : Concerning Criticism of the
Proteolysis - Chelation Theory
of Dental Caries. J. Ontario
Dent. Assoc. 37, 16-20 (1960).
- Shaw, I.H. : Caries Inhibiting Agents.
Pharmacol. Rev. 11, 705-741
(1959).
- Spector, W.S. : Handbook of Biological Data.
Philadelphia and London 1956,
S. 29, S. 80 f.
- Wannenmacher, E. : Lehrbuch der klinischen Zahn-
heilkunde, Band II, 3. Aufl.,
Leipzig 1963, S. 524-564.
- Weihe, W. : Die Umwelt der Versuchstiere
und ihre Standardisierung im
biologischen Test. Bern 1964.
- Zilz, K.W. : Experimentelle und klinische
Untersuchungen über zahnstein-
hemmende Substanzen. Med.
Inaug. Diss. Mainz 1965.

Herrn Professor Dr. Dr. P. Riethe gilt an dieser Stelle sowohl für die Überlassung des Themas als auch für seine stets freundliche Unterstützung mein herzlichster Dank.

Herrn Professor Dr. Dr. S. Koller und Herrn Dr. H. Lange vom Institut für Medizinische Statistik und Dokumentation danke ich für die Hilfe bei der Auswertung des mathematisch - statistischen Teiles.

Herrn Dr. W. Zilz danke ich bestens für seine zahlreichen Hinweise.

LEBENS LAUF

Am 7. September 1940 wurde ich, Peter Richter, als Sohn des Dipl.- Ingenieurs Fritz Richter und seiner Ehefrau Renate, geb. Rösler, in Wetzlar geboren.

Von 1947 - 1949 besuchte ich die Volksschule in Wetzlar, von 1949 - 1951 die Volksschule in Gevelsberg, anschließend bis 1957 die Höhere Schule in St.Wendel/Saar, danach bis 1960 das Städt.Neusprachliche Gymnasium in Landau/Pfalz, wo ich die Reifeprüfung ablegte.

Von 1960 - 1961 wurde ich zur Bundeswehr eingezogen.

Im Sommersemester 1961 immatrikulierte ich mich als Studierender der Zahnheilkunde an der Universität in Mainz, wo ich im Sommersemester 1963 das Physikum und im Juli 1966 das zahnärztliche Staatsexamen bestand.

